Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. *A. v. Muralt*)
und dem Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes
(Direktor: Prof. Dr. *R. Stämpfli*)
Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. *R. Stämpfli*

Die Wirkungen von Veratridin und Ionen auf das Ruhepotential markhaltiger Nervenfasern des Frosches

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von
RALPH STRAUB
von Egnach (Thurgau)

Bern 1956
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547619_0102

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. *A. v. Muralt*)
und dem Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes
(Direktor: Prof. Dr. *R. Stämpfli*)
Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. *R. Stämpfli*

Die Wirkungen von Veratridin und Ionen auf das Ruhepotential markhaltiger Nervenfasern des Frosches

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von
RALPH STRAUB
von Egnach (Thurgau)

Sonderabdruck aus «Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta»
Vol. 14, Fasc. 1, 1956

Bern 1956
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Von der Medizinischen Fakultät auf Antrag des Herrn Prof. Dr. *A. v. Muralt* zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 17. Dezember 1955.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. *W. Wilbrandt*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die Veratrin-Wirkung an Nerv und Muskel ist schon lange Gegenstand eingehender Untersuchungen. Seit der Zusammenfassung von *Krayer* und *Acheson* (1946) erschienen wichtige Arbeiten von *Lorente de Nò* (1947), *Shanes* (1949 a, 1949 b, 1951 a, 1951 b, 1952 b), *Hodler* u. Mitarb. (1950), *Fleckenstein* (1950 a, 1950 b, 1950 c). Infolge der Komplexität der Veratrin-Wirkung und der teilweise inkonstanten Zusammensetzung des Veratrins (Gemisch von Veratridin und Cevadin) ist aber sein Angriffspunkt immer noch größtenteils ungeklärt. Die Wirkung der jetzt zur Verfügung stehenden einzelnen, reinen Veratrum-Alkaloide wurde an isolierten Nerven nur von *Shanes* (1952 a) und *Shanes* u. Mitarb. (1953) untersucht.

Um die Fragestellung zu vereinfachen wurde in der vorliegenden Arbeit nur die Wirkung von Veratridin auf das Ruhepotential (RP) von Nervenfasern analysiert.

Mit einer neuen Meß- und Registrierungsmethode (*Stämpfli* 1954) ist es möglich, Ruhepotentialänderungen an peripheren markhaltigen Nervenfasern stromlos in ihrer annähernd wahren Größe zu messen und auch Einblick in den zeitlichen Ablauf der Potentialänderungen zu erhalten. Damit wurde vorerst der Einfluß von K^+, Na^+, Li^+, Ca^{++}, Cl^-, NO_3^-, SO_4^{--}, Phosphaten, Cyanid, Dinitrophenol und Cocain auf das Ruhepotential untersucht, da bis jetzt Messungen der wirklichen Potentialänderungen an markhaltigen Nervenfasern nur für K^+ und Na^+ vorlagen (*Huxley* und *Stämpfli* 1951 b). Dann wurde die Wirkung dieser Substanzen auf die Veratridin-Depolarisation untersucht. Die von *Gordon* und *Welsh* (1948), *Shanes* (1949 a, 1949 b, 1951 a, 1952 b) und *Shanes* u. Mitarb. (1953) vorgeschlagene Hypothese, daß die Veratrin-Wirkung durch eine Permeabilitätsänderung der Membran zu erklären sei, konnte so weiter präzisiert werden. Es wurde bereits mitgeteilt, daß die Veratrin-Depolarisation durch eine Zunahme der

Die Arbeit wurde mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ausgeführt.

Ich danke der Firma Sandoz A.G., Basel, für die Versuchsmengen von Veratridin.

Na-Permeabilität zu erklären ist (*Straub* 1954), das Verhalten der K- und Anionen-Permeabilität, die Zusammenhänge mit dem Stoffwechsel und den Veratridin-Antagonisten blieben noch ungeklärt.

Methode

Das Prinzip der Methode wurde bereits beschrieben (*Stämpfli* 1953 und 1954, *Stämpfli* und *Straub* 1954). In der vorliegenden Arbeit werden einige technische Einzelheiten mitgeteilt und mögliche Fehlerquellen diskutiert.

Prinzip

Wird an einer einzelnen Nervenfaser die Potentialdifferenz zwischen einer normalen und einer depolarisierten Nervenfaserstelle (Schnürring) mit Außenelektroden gemessen, so ist diese in erster Annäherung stets um den Kurzschlußfaktor

$$\frac{R_1}{R_1 + R_2} \qquad (1)$$

kleiner, wobei R_1 der Widerstand des Außenmilieus pro Längeneinheit, R_2 der Widerstand des Axoplasmas pro Längeneinheit ist. Die gemessene Potentialdifferenz entspricht der wirklichen, wenn durch Erhöhen des Außenwiderstandes auf ein Vielfaches von R_2 dieser Faktor fast gleich 1 wird. Wird an Stelle einer Einzelfaser ein Bündel von Fasern benutzt, ergeben sich grosso modo die gleichen Verhältnisse. Da dann R_2 kleiner ist, wird es leichter, R_1 genügend zu erhöhen. Der Außenwiderstand wird erhöht, indem das Bündel durch ein enges Loch gezogen wird, was die Menge der es umgebenden Flüssigkeit vermindert. Durch Bespülen des Bündels mit isotonischer Saccharoselösung wird überdies das Außenmilieu möglichst ionenfrei gemacht.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß R_1 nur in der interpolaren Region hoch, außerhalb aber klein ist, ergibt sich, daß der wirksame Kurzschlußfaktor kleiner ist, als nach Formel (1) zu erwarten wäre. Er hängt dann auch vom Membranwiderstand in Ringer und Saccharose ab. Wird der Membranwiderstand in der Saccharose größer, so nähert sich der wirksame Kurzschlußfaktor dem nach (1) berechneten Wert. (Versuche ergeben, daß mit Saccharose bespülte Fasern nachher durch 20 mM K nur langsam und wenig zu depolarisieren sind, was auf eine Erhöhung des Membranwiderstandes hinweisen könnte.) Ist der Membranwiderstand in den beiden extrapolaren Abschnitten nicht gleich, so kann theoretisch auch bei beidseits gleichem Ruhepotential eine Potentialdifferenz gemessen werden. Diese ist aber klein, wenn der Kurzschlußfaktor 1 und der Membranwiderstand im Saccharose-Abschnitt hoch ist.

Berührungspotentiale zwischen Saccharoselösung und Ringer bzw. Testlösung können die gemessene Potentialdifferenz beeinflussen, ihr Einfluß ist ebenfalls vom Kurzschlußfaktor abhängig. Ist dieser gleich 1, so fällt ihr Einfluß ganz weg[1].

Der *Kurzschlußfaktor* konnte noch nicht gemessen werden. Er läßt sich nach (1) für ein Bündel mit 150 Fasern auf 0,96 berechnen (elektrische Daten der Fasern nach *Stämpfli* [1952 b], Trennwandloch 0,8 mm ⌀, Saccharoselösung 100 000 Ohm cm).

Zur praktischen Beurteilung der methodischen Fehler ist ein Vergleich mit Resultaten der Kompensationsmethode (*Huxley* und *Stämpfli* 1951 a, *Stämpfli* 1952 a) wichtig (s. S. 5).

[1] Diese Überlegungen wurden durch eine briefliche Mitteilung von *A. F. Huxley* angeregt. Eine eingehendere Darstellung würde jedoch den Rahmen dieser Arbeit übersteigen.

Ruhepotentialmessungen in Lösungen von ganz verschiedener Ionenzusammensetzung ergeben mit beiden Methoden annähernd die gleichen Werte (s. S. 5). Der Einfluß der Berührungspotentiale Saccharose/Testlösung und Membranwiderstandsdifferenzen in den extrapolaren Abschnitten ist offenbar klein, was wiederum zu Gunsten einer Erhöhung des Membranwiderstandes im interpolaren Abschnitt spricht.

Die Vorteile der neuen Methode gegenüber älteren sind offensichtlich: Da bei Depolarisation eines Teiles des Bündels durch den hohen Außenwiderstand kein Strom fließen kann, bleiben die Fasern über längere Zeit unverändert. Das kontinuierliche Bespülen des Bündels ermöglicht es, von einer Außenflüssigkeit plötzlich auf eine andere überzugehen. Wird die erzeugte Potentialänderung registriert, können sowohl das erreichte Potentialniveau wie der zeitliche Ablauf als Kriterien für die Wirkung der betreffenden Substanz verwendet werden.

Apparatur

Die Vorrichtung zur Au nahme der Nervenfasern besteht zur Hauptsache aus einem Plexiglasplättchen, in das ein ⊥-förmiges Loch gebohrt ist. Im horizontalen Loch stecken seitlich 2 feine Polyäthylenrohre von 0,8 mm Innendurchmesser und je 5–7 mm Länge. Das Nervenbündel wird durch die horizontalen Röhrchen gezogen, durch das vertikale Loch fließt Saccharose ein und durch die beiden horizontalen Rohre aus. Beidseits dieser Rohre sind 2 weitere, drehbare Röhrchen angebracht (Innendurchmesser 1,8 mm), die beim Einziehen des Bündels horizontal stehen und nachher hochgeklappt werden, wobei die Bündelenden je ca. 8 mm in sie hineinragen. Durch diese Schläuche fließt Ringer- oder Testlösung. So gelingt es, über eine rechtscharf begrenzte Strecke den Widerstand des Außenmilieus zu erhöhen. Der Zufluß aller Flüssigkeiten wird durch Mariottsche Flaschen konstant gehalten (Geschwindigkeit der Ringer- oder Testlösung ca. 250 ml/Std.). Um rasch und totraumfrei von Ringer- auf eine Testlösung umzuschalten, wurden besondere Vielweghahnen konstruiert, die ganz aus Plexiglas hergestellt sind. Die zuführenden Polyäthylenschläuche (Innendurchmesser 1,14 mm) lassen sich einfach in entsprechend gebohrte Löcher der Hähne stecken. Die ausfließende Flüssigkeit tropft über einen Wollfaden ab, der über eine KCl-gesättigte Agarbrücke mit Ag/AgCl-Elektroden in Verbindung steht. Abbildung eines Schemas der Apparatur siehe *Stämpfli* und *Nishie* (1956) (im vorliegenden Band dieser Zeitschrift).

Elektrischer Teil. Die zwischen den beiden Elektroden bestehende Potentialdifferenz wird einem Gleichstromverstärker und Impedanzumwandler (Knick-Meßverstärker Typ 5 s) zugeführt, der nach dem Zerhackerprinzip arbeitet (Eingangswiderstand mehr als 10^{11} Ohm). Am Ausgang des Impedanzwandlers folgt eine Siebkette mit Drossel und Kondensator, in welcher die durch die Zerhackung entstehenden Wechselströme abgefangen werden. Dann folgt ein Philips-mV-Tintenschreiber PR 2000/M/00, wo die Potentialdifferenz fortlaufend registriert wird. Da der Knick-Verstärker genau 1:1 verstärkt, kann die wirkliche Potentialdifferenz zwischen den beiden Elektroden am mV-Registriergerät direkt abgelesen werden.

Eine der Elektroden ist geerdet. Auf dieser Seite des Präparatstromkreises ist ein Millivolteichgerät mit dem Präparat in Serie geschaltet. So kann der Nullpunkt des Schreibers beliebig verschoben und das ganze Meßsystem bei kurzgeschlossenen Elektroden geeicht werden. Die Testflüssigkeiten werden auf der geerdeten Seite zugegeben. Da die Apparatur symmetrisch ist, müssen nur die Elektrodenanschlüsse vertauscht werden, um auch die andere Seite des Nervenbündels zur Messung verwenden zu können. Die ganze Apparatur ist in einem Faradayschen Käfig aufgebaut. Der Impedanzwandler und das mV-Registriergerät sind über einen magnetischen Spannungsregler aus dem Netz gespeist. Die auftretenden Nullpunktsschwankungen sind kleiner als die Ablesegenauigkeit des Schreibers.

Präparation des Nervenfaserbündels

Der N. ischiadicus und der N. tibialis eines Frosches (R. temporaria, ausnahmsweise esculenta) werden bis zum Fußgelenk frei präpariert. Die Präparation des Bündels geschieht mit dem von *Stämpfli* (1952 b) zur Präparation von Einzelfasern angegebenen Mikroskop und Präparierbesteck. Der Nerv wird unter dem Mikroskop von anhaftenden Bindegewebs- und Muskelstücken befreit, dann die Nervenscheide des N. tibilais aufgeschnitten und abgezogen. Mit einiger Übung gelingt es, beim Aufschneiden und Abziehen der Scheide praktisch keine Fasern zu verletzen. Das Bündel hat schätzungsweise 100–200 Fasern, von denen einige durchschnitten sind, da sie in der Unterschenkelmuskulatur enden. Die Präparation und das Einziehen in die Apparatur dauern 30–45 min.

Vorgehen bei den Versuchen

Nach Einziehen des Bündels in die 3 horizontal stehenden Röhrchen werden die beiden beweglichen Teilstücke hochgeklappt, an die Ringerflaschen angeschlossen und sofort mit Ringer gespült. Dann wird mit der Potentialregistrierung begonnen. Da das mittlere Teilstück jetzt noch mit Ringer gefüllt ist, dient der erste Teil der Kurve zur Kontrolle der EMK-Differenz zwischen den Elektroden gegenüber Ringer. Sie beträgt maximal 4 mV, was am Ende des Versuches nochmals kontrolliert wird, um Änderungen während des Experimentes auszuschließen. Dann wird das Mittelstück mit Saccharoselösung bespült, wobei anfänglich eine Potentialdifferenz (maximal 10 mV) zwischen beiden Elektroden auftreten kann. Diese Differenz wird nach 5–20 min kleiner (maximal 5 mV) und bleibt dann 30 min und mehr konstant. Die zu Messungen vorgesehene Seite des Bündels wird nun mit 20 mM K depolarisiert und die entstehende Depolarisationskurve beobachtet. In guten Versuchen depolarisiert 20 mM K in 20–30 sec um 30 mV, die vollständige Rückkehr auf den Ausgangswert bei Zugabe von Ringer erfolgt in 30–40 sec. Hat diese Depolarisation einen kleineren Wert oder dauern Abfall oder Anstieg länger, so besteht ein Kurzschluß oder der Zufluß von Testlösung oder Saccharose (Geschwindigkeit, Stellung der beweglichen Rohre) ist nicht optimal. In der Regel werden Versuche, die weniger als 20 mV bzw. mehr als 30 sec Depolarisationsdauer ergeben, nicht verwertet.

Fehlerquellen

Zerstörte Fasern, die von einer Grenze des Saccharose-Abschnittes zur andern reichen, können den Kurzschlußfaktor verringern. Zerstörte Fasern, die im Saccharose-Abschnitt enden, beeinflussen den Kurzschlußfaktor kaum, denn sie liegen in einem Gebiet mit hohem Widerstand. Fasern, die in der Nähe der Saccharose-Ringer-Grenze abgeschnitten sind, können hingegen das gemessene Potential beeinflussen, da ein Demarkationsstrom fließen kann. Der Einfluß der Schnittstellen des Bündels auf die gemessene EMK kann hingegen ausgeschaltet werden, da das Bündel mindestens 6 mm (3 Internodien) über den interpolaren Abschnitt hinausreicht.

Einfluß der Grenze Saccharose/Ringer (Testlösung) auf die Fasern. Der Saccharose-Abschnitt ist nicht ganz scharf begrenzt. In einem ungefähr 0,1–0,2 mm messenden Grenzbereich muß durch Mischen von Saccharose mit Ringer- oder Testlösung eine Verdünnung dieser Lösungen erfolgen. Dadurch kann sich diese nicht voll auswirken, was zu einer Verkleinerung der entsprechenden Potentialänderung führt.

Berührungspotentiale Elektroden/Testlösung. Da die Elektroden über eine KCl-gesättigte Agarbrücke mit der Ringer- oder Testlösung in Kontakt stehen, kann theoretisch an den Kontaktstellen kein Berührungspotential auftreten. Um das zu beweisen, wurde in der verwendeten Apparatur folgende Kette aufgebaut: Ag/AgCl/KCl sat. Agar/KCl sat. langsam fließend (Mittelstück)/ Ringer- oder Testlösung (Flußgeschwindigkeit wie in Versuchen)/KCl sat. Agar/AgCl/Ag. Wurden die Testlösungen

gewechselt, so traten zwischen den Elektroden Potentialänderungen von maximal 2 mV auf, die davon herrühren könnten, daß die Agarbrücke an der Berührungsstelle mit der Testlösung nicht mehr die gesättigte KCl-Lösung enthielt. Die Versuchsergebnisse wurden trotzdem nicht korrigiert, da die Berührungspotentiale im Vergleich zu den gemessenen Größen klein sind.

Einfluß der Saccharoselösung auf die Fasern. In einem 4stündigen Versuch wurde regelmäßig alle 15 min mit 20 mM K depolarisiert. Die Größe der Depolarisation nahm in den ersten 37 min von 28 auf 31 mV zu, blieb bis zur 60. min gleich und sank dann langsam ab. Nach 240 min war ihr Wert immer noch 22 mV. Die außerhalb des Saccharose-Abschnittes liegenden Faserstücke scheinen also durch die im Mittelstück fließende Saccharoselösung nicht rasch verändert zu werden. Sie bleiben über mehrere Stunden erregbar.

Vergleich mit Resultaten von Huxley und Stämpfli (1951 a, 1951 b)

a) *Depolarisation mit isoton. KCl*

Huxley und *Stämpfli:* 70,7±1,7 mV (gemessen 67,6±1,4 mV, Korrektur wegen Demarkationsstrom +3,1 mV).
Eigene Versuche: 60,0±7,3 mV (50–74 mV) (13 Versuche), abgelesen 2,5 min nach KCl-Zugabe, in 6 Versuchen war der Endwert noch nicht erreicht.

b) *Depolarisation mit 20 mM K*

Huxley und *Stämpfli:* 28,3±0,83 mV.
Eigene Versuche: 30,8±3,9 mV (26–42 mV) (25 gute Versuche).
26,1±4,7 mV (20–42 mV) (71 Versuche).

c) *Hyperpolarisation mit Na-freier Lösung*

Huxley und *Stämpfli:* 10 mV.
Eigene Resultate: 9,0±1,5 mV (7–11 mV) (6 Versuche).

d) *Hyperpolarisation mit Li-Ringer*

Huxley und *Stämpfli:* 3 mV (1 Versuch).
Eigene Resultate: 2,4±0,4 mV (2–3 mV) (5 Versuche).

Zusammenfassend eignet sich die neue Methode noch nicht für absolute Messungen, doch entsprechen die Resultate annähernd den wirklichen Potentialänderungen.

Lösungen

1. *Saccharose isotonisch:* 73 g/l dest. Wasser. Die Lösung muß einen hohen spezifischen Widerstand haben, deshalb darf nur reinste Saccharose und reines destilliertes Wasser verwendet werden. Es wurde benutzt: Saccharose pyrogenfrei pro injectione von Merck oder Siegfried. Um den spezifischen Widerstand der Saccharoselösung zu erhöhen, wurde sie durch je 2 mit Polyäthylenschläuchen in Serie geschaltete Säulen von Katonen- und Anionenaustauschern geleitet. Als Kationenaustauscher diente Dowex 50 (HCR), als Anionenaustauscher Dowex 1 (SBR). Die Säulen bestanden aus Plexiglas. Die Leitfähigkeit der ausfließenden Lösung wurde in einer Durchflußelektrode dauernd gemessen. Der spezifische Widerstand der Saccharoselösung konnte so bis auf 5 MΩ cm erhöht werden. Als Minimum des spezifischen Widerstandes nahmen wir noch Werte bis 100 000 Ω cm an.

2. *Veratridin:* Stammlösung $1^0/_{00}$. 10 mg Veratridin wurden in 1 ml 1/10 nHCl gelöst und mit 9 ml Ringer verdünnt. Aus dieser Lösung wurde die gebrauchte Verdünnung hergestellt. Die Lösungen enthielten, wenn nicht anders vermerkt, 5×10^{-6} g Veratridin/ml (= $7{,}42 \times 10^{-3}$ mM), Molekulargewicht nach *Stoll* und *Seebeck* (1952).

3. *Ringerlösung.* Es wurde die von *Huxley* und *Stämpfli* (1951 b) angegebene Lösung benutzt, die in den Mariottschen Flaschen mit Luft durchperlt wurde. pH 7,3–7,5, Temperatur 18–22° C.

4. *Testlösungen.* Diese wurden ähnlich wie die Ringerlösung gemacht, wobei jeweils ein oder mehrere Ionen durch andere ersetzt wurden. Auf Isotonie wurde dabei keine Rücksicht genommen, da auch eine 50% hypertonische Lösung (durch Glukosezusatz) keine wesentliche Potentialänderung bewirkt.

Tabelle 1
Zusammensetzung der Testlösungen

	mÄq./l	Kationen	mÄq./l	Anionen
Ringer	112,9	Na^+	115,16	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
20 mM K-Ringer	94,4	Na^+	115,16	Cl^-
	20,0	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
KCl isot.	117,0	K^+	117,0	Cl^-
20 mM K, 40 mM Na-Ringer	40,0	Na^+	115,16	Cl^-
	20,0	K^+	2,4	HCO_3^-
	55,4	Cholin		
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
40 mM Na-Ringer	40,0	Na^+	115,16	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	72,9	Cholin		
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
Lithium-Ringer*	112,9	Li^+	115,16	Cl^-
	2,5	K^+	2.4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
Cholin-Ringer**	112,9	Cholin	115,16	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}		
	117,56		117,56	
Ca-frei Ringer	112,9	Na^+	113,0	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	115,4		115,4	

* LiCl wurde durch Titration des Chloridgehaltes abgemessen, das Bicarbonat durch Einleiten von CO_2 in eine Li_2CO_3-Lösung hergestellt.

** Cholinchlorid (nicht analysenrein) wurde nach seinem Chloridgehalt titriert.

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	mÄq./l	Kationen	mÄq./l	Anionen
4mal Ca-Ringer	112,9	Na^+	121,64	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	8,64	Ca^{++}		
	124,04		124,04	
Sulfat Ringer	112,9	Na^+	4,66	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}	110,5	SO_4^{--}
	117,56		117,56	
Phosphat-Ringer	157,0	Na^+	2,5	Cl^-
	2,5	K^+	52,3	$H_2PO_4^-$
			104,7	HPO_4^{--}
	159,5		159,5	
Nitrat-Ringer	112,9	Na^+	2,16	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}	113,0	NO_3^-
	117,56		117,56	
Glukose-Ringer	2,5	K^+	2,16	Cl^-
	2,16	Ca^{++}	2,5	HCO_3^-
	4,66		4,66	
	218 mM	Glukose	(3,9%)	
2,5 mM KCN-Ringer	112,9	Na^+	112,66	Cl^-
	2,5	K^+	2,4	HCO_3^-
	2,16	Ca^{++}	2,5	CN^-
	117,56		117,56	
Dinitrophenol	0,2 mM α-Dinitrophenol in Ringer			

Zur Herstellung der Lösungen wurden analysenreine Substanzen der Firma Prolabo Rhône Poulenc verwendet.

Resultate

Die Veratridin-Depolarisation

Im Vergleich zur Depolarisation durch erhöhte K-Konzentration, welche in 10–30 sec den Endwert erreichte, senkte Veratridin (5mal 10^{-6} g/ml) das Ruhepotential langsamer. Die maximale Depolarisation nach $4{,}5 \pm 2{,}2$ min (2,0–9,0 min) Veratridin-Wirkung betrug $30{,}6 \pm 3{,}3$ mV (21–36 mV). Die Depolarisation näherte sich langsam einem Endwert, manchmal erfolgte wieder ein leichter Anstieg. Umschalten auf Ringer ergab immer eine Repolarisation, in 4 Versuchen wurde das Ausgangspotential nach $4{,}5 \pm 1{,}9$ min (3,0–6,5 min) erreicht, in 3 der 4 Versuche überschritt es den Ausgangswert um 2–3,5 mV, in 2 anderen Versuchen kam das Potential nicht mehr auf den Ausgangswert zurück.

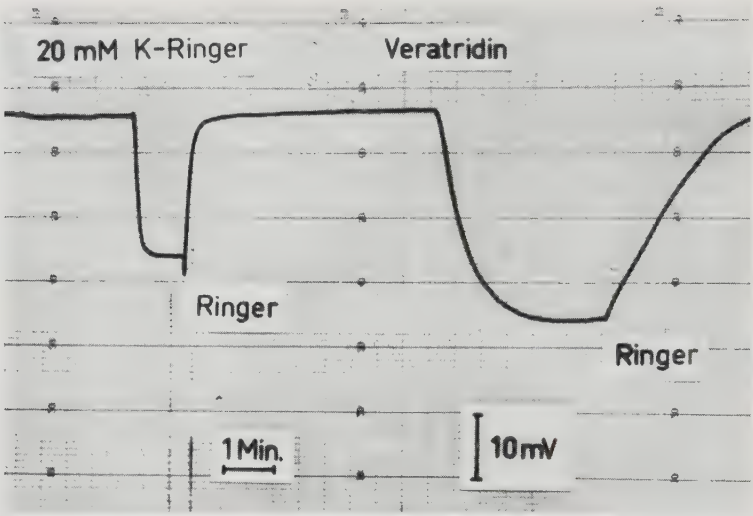

Abb. 1. Vergleich der K-Depolarisation mit der Veratridin-Depolarisation. 20 mM K-Ringerlösung bewirken eine rasche Senkung des Ruhepotentials. Bei Zugabe von Ringerlösung erfolgt ein ebenso rascher Anstieg auf den Ausgangswert. 5×10^{-6} g/ml Veratridin in Ringerlösung depolarisiert hingegen viel langsamer, die Rückkehr auf den Ausgangswert bei Zugabe von Ringerlösung dauert ebenfalls mehrere Minuten. Eine Senkung der Kurve bedeutet eine Abnahme des Ruhepotentials.

Depolarisation und Repolarisation ließen sich mehrmals wiederholen. Bei wiederholter Depolarisation wurde nach $1{,}7 \pm 0{,}4$ min (1,2–2,0 min) ein $40{,}3 \pm 6{,}7$ mV (38–49 mV) tieferes Potential erreicht (4 Versuche), die Repolarisation war hingegen langsamer. Nur 1mal wurde der Ausgangswert nach 10 min wieder erreicht; die anderen Bündel blieben teilweise depolarisiert.

Einfluß der Veratridin-Konzentration auf die Depolarisation. Die Größe der Veratridin-Depolarisation war von der Veratridin-Konzentration abhängig. So genügten 10^{-7} nicht, um das Ruhepotential zu senken, mit 10^{-6} erfolgte eine Depolarisation von 2 mV. Erst mit 5mal 10^{-6} waren größere, reproduzierbare Depolarisationen zu registrieren, weshalb diese Konzentration immer benützt wurde. Bei Erhöhen der Veratridin-Konzentration auf 10^{-5} und 10^{-4} vergrößerte sich die Depolarisation bis maximal 47 mV.

Vergleichsweise treten negative Nachpotentiale schon bei kleineren Veratridin-Konzentrationen auf. So konnten bei Reizung des Bündels auf der einen Seite des Meßsystems nach Zugabe von 10^{-6} und 10^{-7} Veratridin negative Nachpotentiale registriert werden. *Shanes* (1952 a) und *Shanes* u. Mitarb. (1953) benutzten bei ihren Untersuchungen über das negative Nachpotential Veratridin-Konzentrationen von 10^{-6} und 2×10^{-7}.

Am Froschsartorius lassen sich reproduzierbare Veratridin-Zuckungen mit 10^{-7} auslösen (*Witt* 1953), was wir mit unseren Veratridin-Lösungen bestätigen konnten.

Die in unsern Ruhepotentialversuchen benutzte Konzentration von 5×10^{-6} scheint nach diesen Vergleichen eher hoch. Nerven- und Muskelfasern sind in solchen Veratridin-Lösungen noch erregbar, unspezifische Schädigungen sind offenbar nicht eingetreten.

Veratridin-Depolarisation und spontane Aktivität. Um sicher zu sein, daß die beobachtete Depolarisation durch Veratridin auf einer Ruhepotentialänderung beruht und nicht etwa durch spontane Aktivität entstanden ist, wurde mit Hilfe eines Meßverstärkers von kleiner Zeitkonstante (Vorverstärker von *de Gruyter* 1954) und Cossor-Oszillograph in einigen Fällen nachgewiesen, daß im Moment der Veratridin-Depolarisation keine spontane Aktivität des behandelten Bündels auftrat. Spontane oder auch repetitive Aktivität kann deshalb als Ursache der Depolarisation ausgeschlossen werden. Auch *Shanes* (1951 a) hat mit Veratrin keine spontane Aktivität erzeugen können, was mit den vorliegenden Ergebnissen übereinstimmt.

Zur Abklärung der Wirkungsweise des Veratridins wurde das Ruhepotential von veratrinisierten Bündeln bei Änderung der Ionenzusammensetzung der Außenlösung untersucht. Auf Grund der Ansicht, daß das Membranpotential ein Diffusionspotential ist, kann so auf die Permeabilität des betreffenden Ions geschlossen werden (siehe Diskussion). Die Potentialänderungen wurden grundsätzlich zuerst vor, dann während und schließlich nach der Veratridin-Wirkung untersucht.

1. Änderung des Na-Gehaltes der Lösung

Die vorhin beschriebene Veratridin-Depolarisation blieb vollständig aus, wenn Veratridin in Na-freier Lösung (Cholin-Ringer) zugesetzt wurde. Beim Übergang von einer Na-freien Lösung auf eine Na-freie Veratridin-Lösung trat überhaupt kein Ruhepotentialunterschied auf.

Wurde nach Veratridin-Depolarisation in Ringer eine Na-freie Veratridin-Lösung gegeben, so erfolgt eine rasche Hyperpolarisation um $49{,}5 \pm 1$ mV (2 Versuche) auf ein höheres Potential als die Na-freie Lösung vor Veratridin-Applikation gegeben hätte. (Na-frei erhöhte das Ruhepotential um $9{,}0 \pm 1{,}5$ mV [7–11 mV] [6 Versuche].) Wurde dann wieder Veratridin-Ringer zugesetzt, so erfolgte ein rascher Potentialsturz von $66{,}9 \pm 5{,}0$ mV (58–72 mV) (7 Versuche). Das dann erreichte Potentialniveau war tiefer als das Ausgangspotential in Veratridin-Ringer vor der Zugabe der Na-freien Veratridin-Lösung. Nach diesem raschen Potentialsturz setzte ein hyperpolarisierender Vorgang ein; das Potential erreichte dann langsam wieder das Ausgangsniveau in Veratridin-Ringer. Diese Potentialänderungen ließen sich mehrmals wiederholen (vgl. Abb. *Straub* 1954). Als Nachwirkung des Veratridins konnten noch nach 30 min erhöhte Hyperpolarisationswerte mit Na-freier Lösung gefunden werden. Die Größe dieser Hyperpolarisation nahm mit dem Auswaschen des Veratridins langsam ab.

Die Abhängigkeit der Veratridin-Depolarisation vom Na-Gehalt der Lö-

sung ließ sich noch in andern Versuchen nachweisen: In Na-freier Lösung depolarisiert Veratridin nicht. Hatte die Lösung 40 mM Na erfolgte eine Depolarisation von 3mV; in 113 mM Na (= Ringer) ergab sich eine Depolarisation von 31 mV; enthielt die Lösung noch mehr Na, so wurde die Depolarisation noch größer.

Ersetzen des Na durch Li. Wurde alles Na durch Li ersetzt (= Li-Ringer), so erhöhte diese Lösung das Ruhepotential um $2{,}4 \pm 0{,}4$ mV (2–3 mV) (5 Versuche). Wurde nach Veratridin-Depolarisation in Ringer auf veratridinhaltigen Li-Ringer umgeschaltet, so stieg das Potential um 16 mV (1 Versuch) an. Die Veratridin-Nachwirkung zeigte sich ebenfalls darin, daß Li-Ringer gegenüber Ringer eine Hyperpolarisation von bis 20 mV ergab, wobei dieser Wert mit dem Auswaschen des Veratridins im Laufe von 30 min langsam abnahm (4 Versuche).

2. Änderung der K-Konzentration der Außenlösung

An der veratrinisierten Faser hat eine Na-Konzentrationsänderung einen starken Einfluß auf das Ruhepotential. Die Depolarisation durch erhöhte K-Konzentrationen kann deshalb nur bei konstantem Na untersucht werden, nicht aber mit Lösungen, in denen NaCl durch KCl ersetzt wird. Es ist vorteilhaft, den Na-Gehalt im Außenmedium so zu wählen, daß er ungefähr der Na-Konzentration im Innern der Faser entspricht. Der Einfluß des Na-Diffusionspotentials wird dann weitgehend ausgeschaltet (siehe Diskussion).

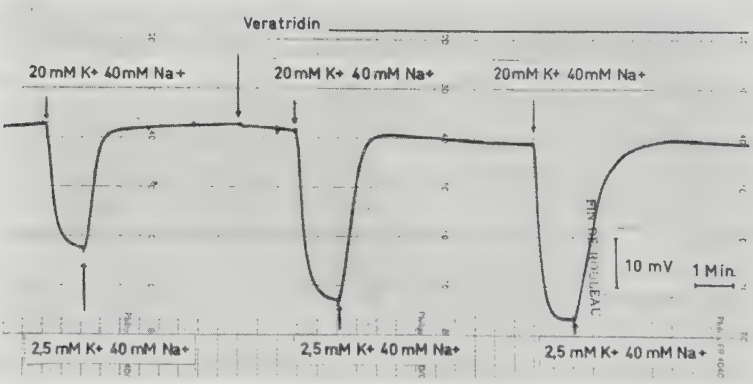

Abb. 2. Einfluß des Veratridins auf die K-Depolarisation. Die durch 20 mM K bewirkte Depolarisation wird unter Einfluß von Veratridin (5×10^{-6} g/ml) vergrößert. Die Kurve zeigt links eine Depolarisation durch 20 mM K und anschließend die Rückkehr auf den Ausgangswert in einer 2,5 mM K-Lösung. Unter dem Einfluß des Veratridins (5×10^{-6} g/ml) wird die Depolarisation durch 20 mM K vergrößert und beschleunigt. Die Na-Konzentration aller Lösungen wurde auf 40 mM vermindert, um die normalerweise bei Veratridin-Zusatz auftretende Depolarisation möglichst zu vermeiden. Eine Senkung der Kurve bedeutet eine Abnahme des Ruhepotentials.

Die verwendeten Lösungen enthielten 40 Mm Na und 2,5 mM K bzw. 40 mM Na und 20 mM (s. S. 6). Die durch 20 mM K bewirkte Depolarisation stieg z. B. von 25,5 mV vor Veratridin auf 35 mV nach 1,5 min und 36 mV nach 13 min Veratridin-Wirkung an. Nach Absetzen des Veratridins wurde nach 40 min wieder annähernd der Ausgangswert der Depolarisation (26 mV) erreicht.

3. Einfluß der Anionen auf das Ruhepotential

a) Resultate ohne Veratridin

Über die Wirkung der Anionen auf das Ruhepotential ist noch wenig bekannt. Bevor der Zusammenhang zwischen Anionen- und Veratridin-Wirkung untersucht werden konnte, mußten einige Vorversuche über die Anionenwirkung gemacht werden. Der Einfluß der Chloride auf das Ruhepotential wurde untersucht durch Erhöhen der Chloridkonzentration (Zugabe von NaCl zu Ringer), Ersetzen der Chloride durch andere Anionen, Ersetzen von NaCl durch Glukose. Wird die NaCl-Konzentration im Ringer durch Zugabe von NaCl erhöht, so ergibt sich immer eine Depolarisation, wie Tab. 2 zeigt.

Tabelle 2
Ruhepotentialänderungen bei Zusatz von NaCl in Substanz zu Ringer

Zusatz von NaCl in mM	Ruhepotentialänderung gegenüber Ringer in mV	Zahl der Versuche
10	—0,8±0,4 (0 bis —1)	11
27,5	—1,9±0,6 (—1 bis —3)	9
55	—3,3±0,4 (—3 bis —4)	11
110	—5,4±0,5 (—5 bis —6)	7

Bei Zusatz von NaCl zu Ringer wird aber gleichzeitig die Na-Konzentration verändert, so daß diese Resultate nicht den wirklichen Einfluß der Chloride ergeben. In einer weiteren Versuchsreihe wurde deshalb die Chloridkonzentration durch Ersetzen der Chloride durch andere Anionen bei möglichst konstanter Na-Konzentration geändert und anderseits Lösungen mit verschiedenem NaCl-, Cholinchlorid- und Glukosegehalt untersucht.

Wurden also Cl^- durch SO_4^{--} (Lösungen B, C, D) ersetzt, entstand eine Depolarisation, wurden sie durch NO_3^- (Lösung H) ersetzt, fand keine wesentliche Potentialänderung statt. Ersetzen der Cl^- durch eine Mischung von $H_2PO_4^-$ und HPO_4^{--} (Lösungen E, F, G), konnte nur unter Erhöhung der Na-Konzentration geschehen. Diese Lösungen ergaben ebenfalls immer eine Depolarisation, die teilweise durch die erhöhte Na-Konzentration und den verminderten Gehalt an ionisiertem Ca bedingt ist. Wurde hingegen Na^+ und Cl^- (Lösungen J, K, L) weggelassen, so entstand eine Hyperpolarisation.

Tabelle 3

Ruhepotentialänderungen bei verschiedenen Chloridkonzentrationen (Ersetzen der Chloride durch andere Anionen und Ersetzen von NaCl durch Glukose oder Cholinchlorid).

	Zusammensetzung der Testlösung in mÄq./l										Ruhepotentialänderung gegenüber Ringer in mV	Zahl der Versuche
	Na^+	Cholin	K^+	Ca^{++}	HCO_3^-	Cl^-	SO_4^{--}	Phos.	NO_3^-	Glukose (in mM)		
A	112,9		2,5	2,2	2,4	115,2					0 (= Ringer)	
B	112,9		2,5	2,2	2,4	87,7	27,5				— 2,5±1,0 — 2 bis — 2,5	3
C	112,9		2,5	2,2	2,4	60,2	55,0				— 5,7±0,8 — 5 bis — 6	3
D	112,9		2,5	2,2	2,4	4,7	110,5				—17,5	1
E	114,7		2,5	2,2	2,4	110,0		7,0			— 1,3±0,6 — 1 bis — 2	3
F	121,8		2,5	1,7	2,0	91,5		32,5			— 3	1
G	135,0		2,5	1,1	1,2	58,8		78,6			— 7,0±1,6 — 5 bis —10	7
H	112,9		2,5	2,2	2,4	2,2			113		0 ±0,5 — 0 bis — 1	4
I	84,7		2,5	2,2	2,4	86,9				54,5	+ 2,6±1,0 + 2,5 bis + 3	3
K	56,5		2,5	2,2	2,4	58,8				109,0	+ 4,5±0,7 + 4 bis + 3	2
L	0,0		2,5	2,2	2,4	2,3				218,0	+26 ±9 +17 bis +36	5
M	0,0	112,9	2,5	2,2	2,4	115,2					+ 9,0±1,5 + 7 bis +11	6
N	40,0		2,5	2,2	2,4	42,3				141,0	+ 7,7±1,2 + 7 bis + 9	2
O	40,0	72,9	2,5	2,2	2,4	115,2					+ 5,2±1,1 + 4,5 bis + 6	2

Das stimmt mit den Resultaten von Tab. 2 überein, nach denen eine erhöhte NaCl-Konzentration eine Depolarisation ergibt.

Wurde bei konstanter Na-Konzentration von einer Glukoselösung auf eine Cholinchloridlösung umgeschaltet, also die Chloridkonzentration erhöht, so ergab sich eine signifikante Depolarisation ($P < 0{,}05$, Lösungen N und O). Dasselbe trat ein, wenn die Lösungen überhaupt kein Na enthielten (Lösungen L und M). Diese Resultate, die nicht den Erwartungen nach Formel 2 entsprechen, müssen vorsichtig bewertet werden. Das Ruhepotential stieg in Lösungen mit geringem Ionengehalt (I, K, L, N) zwar sehr rasch auf hohe Werte, begann dann aber langsam abzusinken, so daß die Messungen nach 1–2 min nicht den Endzustand ergaben. Anderseits besteht die Möglichkeit, daß in den ionenarmen Lösungen der Membranwiderstand zunimmt und somit ein Teil des gemessenen Wertes auf das Berührungspotential Testlösung/Saccharoselösung zurückzuführen ist (vgl. S. 2).

b) Resultate mit Veratridin

1. Wurde Cl^- durch NO_3^- ersetzt, ergaben beide Lösungen auch mit Veratridin das gleiche Ruhepotential (3 Versuche).

2. Wurde bei 40 mM NaCl (Lösung O) das Cholinchlorid durch Glukose ersetzt (Lösung P), so führte die Glukoselösung mit und ohne Veratridin zu einer gleich großen Potentialerhöhung (2 Versuche).

3. Wurden Cl^- durch SO_4^{--} ersetzt, so trat unter Veratridin eine größere Depolarisation durch die SO_4-haltige Lösung auf als ohne Veratridin (5 Versuche). Dieser Effekt dürfte auf einer Abnahme des Gehaltes an ionisiertem Ca beruhen, da der veratrinisierte Nerv auf Ca-Mangel mit Depolarisation reagiert.

Calcium und Veratridin

Gordon and *Welsh* (1948) und *Shanes* (1949 a, 1949 b, 1951 a) stellten fest, daß Ca die Wirkung des Veratrins auf Aktionspotentiale und repetitive Aktivität aufheben kann. Über die Beeinflussung der Veratrin-Depolarisation durch Ca war nichts bekannt.

a) Einfluß des Ca auf das Ruhepotential

Verminderung oder Erhöhung des Ca-Gehaltes der Ringerlösung führte zu meßbaren Veränderungen des Ruhepotentiales: Ca-freie Lösungen senkten das Ruhepotential um $8{,}1 \pm 2{,}2$ mV (5,8–13,0 mV) (14 Versuche), bei Rückkehr in Ringer erfolgte ein rascher Anstieg auf ein um $1{,}3 \pm 0{,}6$ mV höheres Potential. Wurde der Ca-freien Lösung noch 10 mM Na-Citrat zugesetzt, so trat keine größere Depolarisation als mit Ca-freier Lösung allein ein (2 Versuche). Erhöhen der Ca-Konzentration auf das Vierfache (4,4 mM) führte zu keiner sicheren Potentialerhöhung ($+ 1 \pm 1$ mV [-1 bis $+3$ mV])

(4 Versuche), bei Erhöhen auf 5, 10 oder 20 mM trat meistens eine Hyperpolarisation von einigen mV ein[2].

b) Hemmung der Veratridin-Depolarisation durch Ca

Während Veratridin in Ringer (1,1 mM Ca) eine Depolarisation von 30 mV ergab, blieb die Depolarisation aus (0 ± 3 mV [—3 bis +3 mV] (3 Versuche), wenn die Ringer-Veratridin-Lösung 4,4 mM Ca enthielt. Wurde ein mit Veratridin depolarisiertes Bündel bei gleicher Veratridin-Konzentration in eine Lösung mit 4fachem Ca-Gehalt gebracht, so stieg das Potential um $32{,}3 \pm 5{,}2$ mV an (27,5–37,5 mV) (3 Versuche, s. Abb. 3).

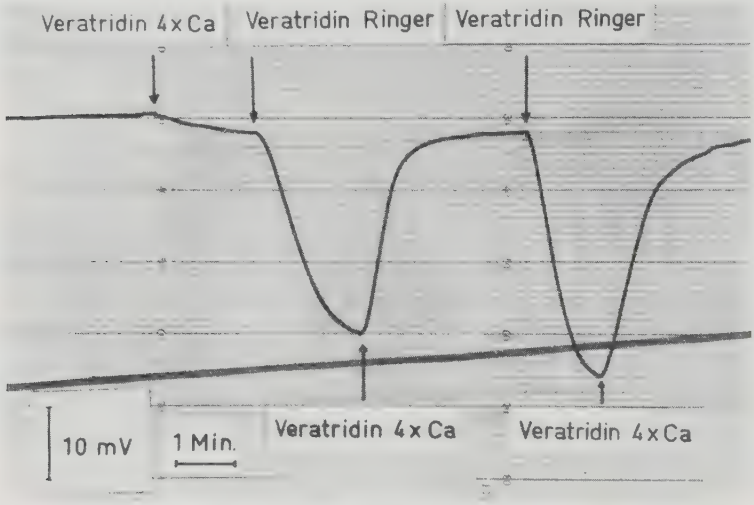

Abb. 3. Hemmung der Veratridin-Depolarisation durch Ca. Die depolarisierende Wirkung des Veratridins (5×10^{-6} g/ml) kann durch Erhöhen des Ca-Gehaltes der Lösung fast vollständig verhindert werden. Wird sodann Veratridin in normaler Ringerlösung zugesetzt, so erfolgt eine rasche Depolarisation. Eine vierfache Erhöhung des Ca-Gehaltes (bei gleicher Veratridin-Konzentration) genügt, um das Ruhepotential wieder auf den Ausgangswert zu bringen. Eine Senkung der Kurve bedeutet eine Abnahme des Ruhepotentials.

Bei höherer Veratridin-Konzentration (10^{-4}) konnte mit 4,4 mM Ca die Depolarisation nicht aufgehoben werden. Erst 8,8 mM Ca verursachte eine Repolarisation. Nach einer Veratridin-Depolarisation und Rückkehr des Potentials auf den Ausgangswert konnte als Nachwirkung des Veratridins eine sehr viel stärkere Depolarisation durch Ca-Mangel festgestellt werden.

[2] Eine ausführliche Darstellung der Zusammenhänge zwischen Ca-Konzentration und Ruhepotential erscheint später.

Cocain und Veratridin

Aus den Arbeiten von *Shanes* (1951 a, 1952 b) geht hervor, daß Cocain die Veratridin-Wirkung hemmen kann. $1‰$ Cocain HCl in Ringer erhöhte das Ruhepotential geringfügig (+ 1±1 mV [0 bis +1 mV]) (3 Versuche), gemessen nach 5 min. Wurde auf ein mit Veratridin depolarisiertes Bündel bei gleicher Veratridin-Konzentration eine $0{,}5‰$ oder $1‰$ Cocain-Ringerlösung gegeben, so stieg das Ruhepotential rasch auf den Ausgangswert oder einen etwas höheren Wert an.

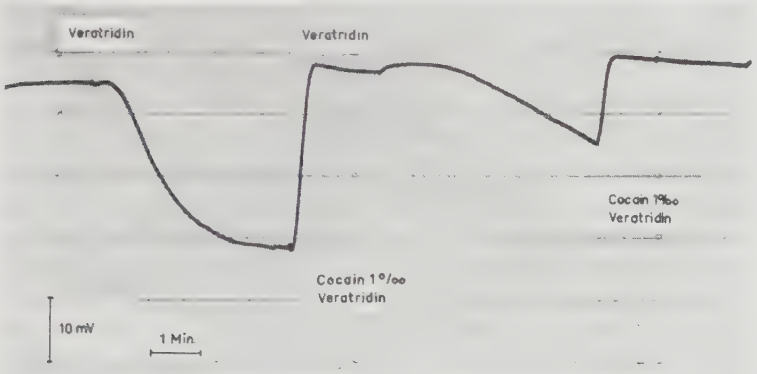

Abb. 4. Hemmung der Veratridin-Depolarisation durch Cocain. Die Kurve zeigt eine Depolarisation durch 5×10^{-6} g/ml Veratridin-Ringerlösung. Wird der Veratridin-Lösung $1‰$ Cocain zugesetzt, so erfolgt ein sehr rascher Anstieg des Ruhepotentials über das Ausgangsniveau hinaus. Wird Cocain wieder weggelassen, so setzt die Veratridin-Depolarisation verzögert ein. Eine Senkung der Kurve bedeutet eine Abnahme des Ruhepotentials.

Stoffwechselgifte und Veratridin

Die Veratridin-Depolarisation läßt sich mit einer Zunahme der Na-Permeabilität erklären (siehe Diskussion). Da im Außenmilieu die Na-Konzentration größer als im Innern der Faser ist, kann bei vergrößerter Na-Permeabilität vermehrt Na einströmen. Dadurch erhöht sich die Na-Innenkonzentration (*Shanes* 1952 b). *Hodgkin* und *Keynes* (1953) zeigten, daß der Na-Ausstrom durch verschiedene Stoffwechselgifte vermindert werden kann. Es bestand daher die Möglichkeit, daß die Veratridin-Depolarisation durch diese Substanzen verstärkt würde.

Dinitrophenol (DNP) 0,2 mM. DNP veränderte das RP nur wenig (—1,3±0,3 mV [0–3 mV]) (6 Versuche). Diese Änderung erfolgte in den ersten 3 min, anschließend blieb das Ruhepotential über 30 min gleich (3 Versuche). Zusammenhang mit Veratridin: Nach Veratridin-Depolarisation trat auch mit DNP-Ringer wieder eine Repolarisation ein, lediglich die Repolarisationsgeschwindigkeit war in 2 Versuchen verlangsamt, in 2 andern aber nicht.

Wurde nach 30 min DNP Vorbehandlung ein Bündel mit Veratridin-DNP-Ringer depolarisiert, so verlief die Depolarisation und Repolarisation in Gegenwart von DNP gleich wie in Ringer.

KCN 2,5 mM. KCN allein führte zu keiner wesentlichen Ruhepotentialveränderung (0,0±1,5 mV [+2 bis −2,5 mV]) (6 Versuche), gemessen nach 5 min. Wurde nach vorausgegangener Veratridin-Depolarisation die Repolarisation mit KCN-haltiger Ringerlösung durchgeführt, so war die Repolarisationsgeschwindigkeit verlangsamt (4 Versuche). An Bündeln, die 4–29 min vorher mit Veratridin depolarisiert worden waren, senkte KCN das Ruhepotential um 10±4 mV (3 Versuche).

Diskussion

Die Wirkung des Veratridins auf das Ruhepotential soll auf Grund der «constant field theory» von *Goldman* (1944) und den daraus von *Hodgkin* und *Katz* (1949) abgeleiteten Formeln diskutiert werden. Sie geht von der Voraussetzung aus, daß der Spannungsgradient durch die Membran konstant ist und sich die Ionen nur unter dem Einfluß von Diffusion und elektrischem Feld bewegen. Zudem muß die Konzentration in den Randpartien der Membran direkt proportional der Konzentration im angrenzenden Medium sein. Das Membranpotential (E) läßt sich dann, solange kein Nettostrom durch die Membran fließt, durch folgende Formel ausdrücken:

$$E = \frac{R\,T}{F} \log_e \frac{P_K(K)_i + P_{Na}(Na)_i + P_{Cl}(Cl)_o}{P_K(K)_a + P_{Na}(Na)_a + P_{Cl}(Cl)_i} \qquad (2)$$

wobei P_K, P_{Na}, P_{Cl} die K-, Na- und Cl-Permeabilitätskonstanten, $(K)_i$, $(Na)_i$ und $(Cl)_i$ die K-, Na- und Cl-Aktivität (meist gleich Konzentration gesetzt) im Innern der Faser, $(K)_a$, $(Na)_a$ und $(Cl)_a$ die entsprechenden Aktivitäten im Außenmilieu sind.

Hodgkin und *Katz* (1949) fanden für das Ruhepotential des Loligo-Axons $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0{,}04 : 0{,}45$. Mit diesen Werten läßt sich das Ruhepotential der markhaltigen Nervenfaser des Frosches für verschiedene K, Na und Cl-Außenkonzentrationen jedoch nicht berechnen. Potentialänderungen sind nach Formel (2) in folgenden Fällen zu erwarten.

Depolarisation

K: Perm.-Abnahme	Na: Perm.-Zunahme	Cl: Perm.-Abnahme
Konz.-Zunahme außen	Konz.-Zunahme außen	Konz.-Abnahme außen
Konz.-Abnahme innen	Konz.-Abnahme innen	Konz.-Zunahme innen

Hyperpolarisation

K: Perm.-Zunahme	Na: Perm.-Abnahme	Cl: Perm.-Zunahme
Konz.-Abnahme außen	Konz.-Zunahme außen	Konz.-Zunahme außen
Konz.-Zunahme innen	Konz.-Abnahme innen	Konz.-Abnahme innen

a) Änderung der Außenkonzentration

Es muß vorerst geprüft werden, ob die Ionen-Konzentration in der Spülflüssigkeit gleich der Außenkonzentration gesetzt werden kann. Werden Nerven in eine kleine Wanne mit einer bestimmten Lösung gelegt, so besteht immer die Möglichkeit, daß sich diese mit der Zeit durch Abgabe oder Aufnahme von Ionen aus der Faser verändert. Bei den hier beschriebenen Versuchen werden aber die Fasern ständig von einer großen Menge Flüssigkeit bespült, diese kann deshalb in ihrer Zusammensetzung durch Ionenabgabe oder -aufnahme nicht wesentlich verändert werden. Die unmittelbar der Fasermembran anliegende Flüssigkeitsschicht könnte eine andere Ionenkonzentration als die Spülflüssigkeit haben, denn dort ist die Spülwirkung wegen der kleinen Strömungsgeschwindigkeit geringer. *Shanes* (1952 b) vermutete, daß eine Ansammlung von K an der Faseroberfläche die Depolarisation und das negative Nachpotential in Veratrin verursache. Die Depolarisationskurve bei erhöhter K-Konzentration zeigt nun aber (Abb. 1), daß sich das Ruhepotential sofort ändert, sobald die neue Lösung in Kontakt mit den Fasern kommt, daß es nach 20–30 sec einen neuen Wert erreicht hat und diesen dann unverändert beibehält. In 30 sec ist das neue Außenmilieu durch das Spülen offenbar so nahe an die Membranoberfläche gekommen, daß sich die restliche Konzentrationsdifferenz durch Diffusion der Ionen ausgeglichen hat. Diese Befunde geben auch einen guten Begriff für die diffusionsbedingte Verzögerung der Konzentrationsänderung an den erregbaren Membranen eines Faserbündels. *Huxley* und *Stämpfli* (1951 b) hatten an der Einzelfasern bei plötzlichem Wechsel der K-Außenkonzentration eine Ruhepotentialänderung gefunden, die in ihrem zeitlichen Verlauf auf weniger als 1 sec genau mit der Konzentrationsänderung parallel lief. Sie kamen deshalb zum Schluß, daß eine Wirkungslatenz, falls sie überhaupt existiere, kleiner als 1 sec sein müsse. Es darf deshalb angenommen werden, daß der Kurvenverlauf der hier vorliegenden KCl-Depolarisationskurven zur Hauptsache durch die Verwendung eines Faserbündels und die durch Diffusion in die interaxonalen Räume bedingte Verzögerung des Konzentrationsausgleiches entstanden ist.

Shanes (1951 b, 1952 b) weist darauf hin, daß die durch K-Austritt in Gegenwart von Stoffwechselgiften funktionsuntüchtig gewordenen Fasern durch Waschen mit der gleichen Lösung restauriert werden können. Dazu genügten schon viel kleinere Flüssigkeitsmengen, als wir bei unserer Methode verwendeten. Da die Veratridindepolarisation trotz ständigem Spülen fortbesteht, kann die Veratridinwirkung nicht auf einem K-Austritt mit Ansammlung an der Faseroberfläche beruhen. Auch aus den Versuchen von *Keynes* (1954) geht hervor, daß die hier verwendete Strömungsgeschwindigkeit von 3 cm/sec in der Längsrichtung (berechnet nach Angaben von S. 3) voll genügt, um austretende Ionen wegzuwaschen. In den folgenden Aus-

führungen wird deshalb die Außenkonzentration gleich der Konzentration in der Spülflüssigkeit gesetzt.

b) Änderung der Innenkonzentration

Kann die Veratridin-Depolarisation durch Veränderung der Innenkonzentration erklärt werden? Nach *Shanes* (1952 b) verliert die veratrinisierte Faser ca. 6% ihres K-Gehaltes pro Stunde und nimmt entsprechend Na auf. Derartig langsame Änderungen der Gesamtinnenkonzentration würden das Ruhepotential entsprechend langsam ändern und kommen als Ursache der Veratridin-Depolarisation, die in einigen Minuten einen Endwert erreicht, nicht in Frage.

Es bleibt nur noch zu untersuchen, ob sich nicht in unmittelbarer Nähe der Membran durch K-Verlust eine andere K-Konzentration als durchschnittlich im Axoplasma, einstellt. Nach *Hodgkin* und *Keynes* (1950) hat K^+ im Axoplasma praktisch die gleiche Diffusionskonstante wie in M/5-Lösung, so daß nach *Keynes* (1951) bei Eintritt von radioaktiven Ionen in Ruhe diese mit den inaktiven so schnell gemischt werden, daß keine störenden Konzentrationsgradienten im Innern entstehen. Das gleiche gilt sogar auch während der Aktivität.

Da die Innenkonzentration markhaltiger Nervenfasern ohnehin nicht genau bekannt ist und da ferner mit der hier verwendeten Methode nur dann das volle Ruhepotential eines Nervenabschnittes meßbar wird, wenn es in einem Vergleichsabschnitt gleich Null gemacht werden kann, schien es von vornherein aussichtslos, z. B. durch Anwendung von isotonischer KCl-Lösung die absolute Größe des Ruhepotentials bestimmen zu wollen. Dagegen wurde von der Möglichkeit Gebrauch gemacht, die durch eine bestimmte Ionenaußenkonzentration bedingte Potentialänderung gegenüber einer normalen Nervenstelle zu registrieren und somit die Größe der außenkonzentrationsbedingten Potentialzu- oder -abnahme mit oder ohne Veratridin zu messen und zu vergleichen. Bei Verwendung geeigneter Außenlösungen kann dann die Innenkonzentration unberücksichtigt bleiben, wie im folgenden Kapitel gezeigt wird.

c) Änderung der Permeabilität

Eine Änderung der Außenkonzentration eines Ions bewirkt an Nervenfasern eine bestimmte Ruhepotentialänderung. Wird dieser Effekt durch die Einwirkung eines Wirkstoffes, im vorliegenden Fall des Veratridins, verstärkt oder vermindert, so kann auf eine veratridinbedingte Permeabilitätsänderung für das betreffende Ion in bezug auf die Permeabilität der andern Ionen geschlossen werden. Ist die Konzentration eines Ions innen und außen gleich, so ändert eine Permeabilitätsänderung das Diffusionspotential des betreffenden Ions nicht. Beim Vorhandensein von andern Ionen wird aber

trotzdem eine Potentialänderung auftreten, da sich der Quotient nach Formel (2) ändert.

1. Die Wirkung des Veratridins auf K-Permeabilität und K-Innen-Konzentration

20 mM K depolarisieren in Gegenwart von Veratridin stärker als ohne Veratridin. Nach Gleichung (2) kann die Depolarisation (ΔE) berechnet werden:

$$\Delta E = \frac{R\,T}{F} \log_e \frac{P_K(K)_i + P_{Na}(Na)_i + P_{Cl}(Cl)_a}{P_K\,2{,}5 + P_{Na}(Na)_a + P_{Cl}(Cl)_i}$$

$$- \frac{R\,T}{F} \log_e \frac{P_K(K)_i + P_{Na}(Na)_i + P_{Cl}(Cl)_a}{P_K\,20 + P_{Na}(Na)_a + P_{Cl}(Cl)_i}$$

Da die Depolarisation nur 20 30 sec dauert, kann $(K)_i$ und $(Na)_i$ in dieser Zeit als konstant angenommen werden[3]; $(Cl)_a$ ist in der Ausgangslösung und der 20 mM K-Lösung gleich. So erhalten wir:

$$\Delta E = \frac{R\,T}{F} \log_e \frac{P_K\,20 + P_{Na}(Na)_a + P_{Cl}(Cl)_i}{P_K\,2{,}5 + P_{Na}(Na)_a + P_{Cl}(Cl)_i} \qquad (3)$$

Da $(Na)_a$ konstant und $P_{Cl} < P_K$ und $(Cl)_i$[4] $< (K)_a$ (bzw. 2,5 mM oder 20 mM) und $\ll (Na)_a$ (= 40 mM), hängt ΔE vor allem von P_K und P_{Na} ab. Im nächsten Abschnitt wird gezeigt, daß Veratridin P_{Na} vergrößert, was in Formel (3) ΔE verkleinern würde. Nimmt also die durch 20 mM K erzeugte Depolarisation (ΔE) unter Veratridin zu, so kann das nur auf einer Zunahme von P_K beruhen, da ΔE nach Formel (3) unabhängig von der K-Innenkonzentration ist, welche sich durch die Veratridin-Wirkung ja ebenfalls ändert (*Shanes* 1952 b).

Nach diesen Überlegungen erhöht Veratridin die K-Permeabilität in dem von uns durch die 20 mM K Test-Depolarisation untersuchten Ruhepotentialbereich. Bei höherer K-Außenkonzentration, wo das RP schon normalerweise fast nur ein K-Diffusionspotential ist (*Huxley* und *Stämpfli* 1951 b), kann Veratridin natürlich die K-Permeabilität nicht mehr weiter erhöhen. In orientierenden Versuchen ließ sich denn auch keine Veratridin-Wirkung auf die Depolarisation mit isotonischer KCl-Lösung feststellen.

2. Die Wirkung des Veratridins auf die Na-Permeabilität und die Na-Innenkonzentration

Die Tatsache, daß die Veratridin-Depolarisation in Na-freien Lösungen ausbleibt (*Straub* 1954), daß bei ungefähr gleicher Na-Konzentration außen

[3] Nach *Boyle* und *Conway* (1940) bleibt $(K)_i$ unter diesen Bedingungen überhaupt konstant. *Hodgkin* und *Katz* (1949) nahmen unter ähnlichen Umständen $(K)_i$ und $(Na)_i$ ebenfalls als konstant an.

[4] $(Cl)_i$ ist unbekannt, es wird von *Fenn* u. Mitarb. (1934) als Null angenommen.

wie innen eine sehr kleine Depolarisation eintritt und die Veratridin-Depolarisation durch Erhöhen der Na-Konzentration außen größer wird, spricht für eine starke Zunahme von P_{Na}. Berechnen wir nach Formel (3) die Hyperpolarisation durch eine Na-freie Lösung ($\Delta E'$), so erhalten wir:

$$\Delta E' = \frac{R\,T}{F} \log_e \frac{P_K\,2{,}5 + P_{Na}\,113 + P_{Cl}(Cl)_i}{P_K\,2{,}5 + P_{Na}\;\;0 \;\; + P_{Cl}(Cl)_i}$$

wobei wiederum angenommen wird, daß sich $(K)_i$ und $(Na)_i$ während der Dauer der Potentialänderung (hier zirka 1 min) nicht ändern und daß $P_{Cl} < P_K$ und $(Cl)_i < 2{,}5$ mM.

$\Delta E'$ hängt so nur noch von P_K und P_{Na} ab. Nimmt $\Delta E'$ unter Veratridin zu, so kann das nur auf einer Zunahme von P_{Na} beruhen, da die vorhin festgestellte Zunahme von P_K $\Delta E'$ ja verkleinern würde. $\Delta E'$ vergrössert sich unter Veratridin von 9,0 auf 58 mV bei der ersten Hyperpolarisation bzw. 67 mV bei wiederholten Hyperpolarisationen. P_{Na} muß entsprechend sehr stark zunehmen.

Zum Vergleich der relativen Größe von P_{Na} am veratrinisierten Nerven zu P_K an normalen Nerven kann folgende Überlegung dienen: K-freie Ringerlösung erhöht das Ruhepotential um 2 mV (eigene Messungen und *Huxley* und *Stämpfli* [1951 b]). Der Ruhepotentialunterschied zwischen dieser Lösung und KCl isoton. = 0 mM K/117 mM K beträgt an normalen Fasern 62,0 mV. An veratrinisierten Fasern ergibt anderseits der Übergang von Na-freier Ringerlösung zu Ringer entsprechend 0 mM Na/113 mM Na eine Ruhepotentialänderung von 67 mV, dies trotz der erhöhten K-Permeabilität, die dieser Potentialänderung entgegenwirkt. P_{Na} an der veratrinisierten Faser scheint also größer als P_K in Ruhe zu sein.

Nach der Veratridin-Wirkung nimmt die erhöhte Na-Permeabilität nur langsam ab, was durch die noch lange nachher erhöhte Hyperpolarisation in Na-freier Lösung gezeigt wird. Da nach Veratridin die erhöhte K-Permeabilität ebenfalls nur allmählich abnimmt, wird es verständlich, weshalb bei Rückkehr in Ringer die Repolarisation auf den Ausgangswert oder einen höheren oder tieferen Wert erfolgen kann. P_K und P_{Na} nehmen offenbar nicht immer im gleichen Maße ab.

Wird unter Veratridin-Wirkung von Na-freier Lösung auf Ringerlösung übergegangen, so erfolgt nach einem raschen initialen Potentialsturz ein langsames Ansteigen des Ruhepotentials. Der rasche Potentialsturz kann mit der erhöhten P_{Na} erklärt werden, der nachfolgende langsame Anstieg ist noch nicht völlig geklärt. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit der Bindung von Ca an das Na-Überträgersystem, da bei Verminderung der Ca-Außenkonzentration ähnliche Depolarisationsformen auftreten.

Lithium

Wird das Na des Außenmilieus durch Li ersetzt, so ändert sich das Ruhepotential nur wenig (+ 2,4 mV) und der Erregungsprozeß verläuft gleich wie in Ringer (*Huxley* und *Stämpfli* 1951 b). Na- und Li-Permeabilität scheinen daher weitgehend gleich zu sein. Unter Veratridin-Wirkung ändert sich dieses Bild. Li-Ringer macht jetzt gegenüber Ringer eine starke Hyper-

polarisation, die auch als Nachwirkung der Veratridin-Wirkung noch während über 30 min auftritt.

Das kann nicht auf einem methodischen Fehler beruhen. Da unter Veratridin der Membranwiderstand wahrscheinlich abnimmt (Vergrößerung der Permeabilität), muß der Einfluß des Berührungspotentials LiCl/Saccharose abnehmen. Wenn also ein Teil der 2,4 mV, die beim Wechsel Ringer/Li-Ringer gemessen werden, auf Berührungspotentialen beruhen würde, dann müßte unter Veratridin der Anteil des Berührungspotentials kleiner werden.

Die Hyperpolarisation durch Li zeigt, daß die Membran für Li weniger permeabel ist als für Na, was ja auch schon aus den Abmessungen des hydratierten Li-Ions erwartet werden kann. Dieser Permeabilitätsunterschied zwischen Na und Li wird durch Veratridin offenbar verstärkt.

Die Beobachtungen von *Goffart* und *Bacq* (1952), daß Veratrin die «Empfindlichkeit» des Skelettmuskels auf K^+, Rb^+, Cs^+, NH_4^+, Na^+ und Ba^{++} erhöht, aber nicht auf Li^+ und H^+, ließen sich für K^+, Na^+ und Li^+ aus den vorliegenden Resultaten gut deuten.

3. Die Wirkung des Veratridins auf die Anionenpermeabilität

Bis jetzt ist noch wenig über die Cl-Permeabilität der markhaltigen Nervenfasermembran bekannt, so daß wir vorgängig der Veratridin-Versuche das Verhältnis zwischen Cl-, K- und Na-Permeabilität untersuchen mußten. Vergleichsweise wird seit den Untersuchungen von *Boyle* und *Conway* (1941) und *Dean* (1941) angenommen, daß die Muskelmembran für K und Cl gut durchlässig sei, für Na jedoch relativ undurchlässig. Ähnliche Verhältnisse finden sich auch bei der Loligo-Riesenfaser, deren Cl-Permeabilität über 100mal größer als die Na-Permeabilität ist (*Hodgkin* und *Katz* 1949).

Nach den vorliegenden Resultaten ergibt eine erhöhte NaCl-Konzentration immer eine Depolarisation. Nach Formel (2) erwartet man bei Erhöhung der Na-Konzentration eine Depolarisation, bei Erhöhung der Cl-Konzentration eine Ruhepotentialerhöhung. Bei Zusatz von NaCl müßte bei $P_{Cl} = P_{Na}$ eine Depolarisation entstehen, da das Na-Potential stärker betroffen wird, weil $(Na)_i > (Cl)_i$. Die vorhandenen Resultate lassen sich noch nicht qualitativ auswerten, jedoch scheint bei den untersuchten Fasern P_{Na} etwas kleiner als P_{Cl}, was den Verhältnissen an der Riesenfaser nicht ganz entspricht.

Wenn bei gegebener NaCl-Konzentration Cholinchlorid oder Glukose zugesetzt wird, so ergibt die Cholinchloridlösung eine Depolarisation gegenüber der Glukoselösung. Die höhere Chloridkonzentration führt also zu einer Depolarisation und nicht zu einem Anstieg des Ruhepotentials, wie nach Formel (2) zu erwarten wäre. Wie auf S. 13 bemerkt, ist diese Messung aber vorsichtig zu bewerten.

Werden Chloride durch andere Anionen ersetzt, so tritt bei SO_4^{--} und Phosphaten eine Depolarisation ein, bei NO_3^- keine Potentialänderung. Ein Vergleich mit der Wanderungsgeschwindigkeit in wässeriger Lösung ergibt, daß die ungefähr gleich schnell wandernden Cl^- und NO_3^- auch den gleichen Einfluß auf das Potential haben, während die langsameren SO_4^{--} und $H_2PO_4^-/HPO_4^{--}$ einen geringeren hyperpolarisierenden Einfluß haben als die Chloride, was zu einer Depolarisation führt. Allerdings beruht die Wirkung der Sulfate und Phosphate teilweise auf einer Abnahme der Konzentration der Ca-Ionen.

Unter *Veratridin* werden bei verändertem Chloridgehalt durch Cholinchlorid und Glukose die gleichen Potentialänderungen gefunden wie ohne. Es darf also angenommen werden, daß das Veratridin die Anionenpermeabilität nicht beeinflußt.

Nun sind aber *Shanes* u. Mitarb. (1953) der Ansicht, daß das negative Nachpotential, das sie am Loligo-Axon unter Cevadin-Wirkung gefunden haben, durch eine Erhöhung der Chloridpermeabilität zu erklären sei. Obschon diese Untersuchungen nicht ohne weiteres mit unseren Versuchen verglichen werden können, scheint doch ein gewisser Widerspruch zwischen *Shanes* und unserer Ansicht zu bestehen. *Shanes* hat nun aber selber darauf hingewiesen, daß die Zunahme von P_{Cl} zwar theoretisch die Bedingungen für Potential- und Leitfähigkeit erfülle, aber nicht ganz befriedige, weil das negative Nachpotential in Na-armen Lösungen abnimmt, und weil es auch an der Cl-armen Faser der Wirbeltiere gefunden wird, wo eine P_{Cl}-Zunahme kein negatives Nachpotential ergäbe.

Da wir aber unter Veratridin-Wirkung keine Zunahme der Anionenpermeabilität gefunden haben, wäre zu versuchen, ob nicht die von uns gefundene Na- und K-Permeabilitätserhöhung auch das negative Nachpotential erklären würde. Bei gleichzeitiger P_K- und P_{Na}-Erhöhung ließe sich vielleicht für beide ein Wert finden, mit welchem Potential und Leitfähigkeit zu berechnen sind. Diese Hypothese hätte auch für Wirbeltiere Gültigkeit und würde die Abhängigkeit des negativen Nachpotentials von der Na-Außenkonzentration erklären.

Ruhepotential und Stoffwechsel

Das Ruhepotential, das auf der ungleichen Ionenverteilung zwischen Innen- und Außenmilieu und der selektiven Permeabilität der Membran beruht, muß irgendwie von Stoffwechselprozessen abhängen. Die Ionenkonzentration im Axoplasma werden durch aktiven Na-Transport aufrechterhalten, der grundsätzlich auf zwei Arten funktionieren könnte (*Hodgkin* 1951).

Erste Art. Na wird als Ion hinausbefördert, ohne daß äquivalente Mengen Kationen hereinkommen oder Anionen hinausgehen. In diesem Falle muß ein plötzliches Abstellen der Na-Pumpe zu einer raschen Ruhepotentialsenkung führen, der ein langsames weiteres Absinken folgt, das durch Innenkonzentrationsänderungen bedingt ist.

Zweite Art. Na wird zusammen mit Anionen hinausbefördert oder gleichzeitig erfolgt ein Einstrom eines anderen Kations. Dann hat die Na-Pumpe keinen direkten Einfluß auf das Ruhepotential, und ein Abstellen der Pumpe führt zu langsamem Abfall des Ruhepotentials durch K-Verlust.

Die Na-Pumpe kann nach *Hodgkin* und *Keynes* (1953) mit 0,2 mM DNP 1 mM oder 10 mM NaCN oder 3 mM NaN_3 beeinflußt werden. Diese Substanzen reduzieren am Sepia-Axon den Na-Ausstrom nach 100 min auf 1/20, den Einstrom auf 1/2, wobei sich Ruhepotential und Ausstrompotential nur um wenige mV ändern.

Nach den vorliegenden Resultaten führt auch an der markhaltigen Nervenfaser weder DNP noch Cyanid zu einem plötzlichen Absinken des Ruhepotentials. Auch bei maximal 30minütiger Wirkungszeit waren keine grösseren Potentialänderungen als 1–2 mV meßbar. Der Na-Ausstrom nimmt unter der Wirkung von DNP und Cyanid wahrscheinlich auch an der markhaltigen Faser nur langsam ab. Plötzliche Ruhepotentialänderungen sind deshalb nicht zu erwarten. Da das Ruhepotential über 30 min praktisch unverändert bleibt, scheint ein indirekter Zusammenhang zwischen Stoffwechsel und Ruhepotential wahrscheinlich.

Veratrin führt wie Stoffwechselgifte zu einer vermehrten Na-Aufnahme und K-Verlust. Die Veratrin-Wirkung auf diese Ionenverschiebungen läßt sich aber mit Cocain hemmen, nicht hingegen die Wirkung der Stoffwechselgifte (*Shanes* 1952 b). Deshalb scheint Veratrin keine stoffwechselhemmende Wirkung zu haben. Der veratrinisierte Nerv hat denn auch einen 15% höheren O_2-Verbrauch (*Schmitt* und *Gasser* 1933).

Nehmen wir dennoch an, daß Veratridin den aktiven Na-Ausstrom beeinflussen könnte und beispielsweise eine Na-Pumpe der ersten Art abstellen würde, so wäre die relativ rasche Depolarisation verständlich. Verständlich wäre auch die Tatsache, daß die Depolarisation in Na-freien Lösungen ausbleibt. Nicht zu verstehen ist aber dann der antagonistische Effekt von Ca-Ionen und Cocain und der erhöhte O_2-Verbrauch bei abgestellter Na-Pumpe. Eine Wirkung von Veratridin auf eine Na-Pumpe der zweiten Art ist deswegen unmöglich, weil dann die Veratridin-Depolarisation nur aus Änderungen der Innenkonzentration beruhen würde, was nach den Ausführungen im vorigen Kapitel ausgeschlossen scheint.

Die Zunahme der Na-Innenkonzentration unter Veratrinwirkung (*Shanes* 1952 b) scheint also viel eher auf einem größeren Na-Einstrom infolge der erhöhten Na-Permeabilität zu beruhen, der durch die Na-Pumpe nicht kompensiert werden kann. Möglicherweise arbeitet dann die Na-Pumpe vermehrt und verursacht so den erhöhten O_2-Verbrauch.

Untersuchen wir nun, unter Veratridin-Einfluß bei erhöhter Na-Permeabilität nochmals die Wirkung von DNP und Cyanid, so ergibt sich, daß auch in diesem Falle DNP das Ruhepotential nicht verändert. KCN führt hingegen nach vorangegangener Veratridin-Wirkung zu einer Potentialsenkung. Diese KCN-Depolarisation scheint uns aber nicht stoffwechselbedingt zu sein. KCN-Ringerlösungen sind alkalischer als Ringerlösung und enthalten deshalb weniger freie Ca-Ionen. Nach Veratridinbehandlung werden Nervenfasern schon durch eine geringe Verminderung der Ca-Konzentration depolarisiert (S. 14), was die beobachtete KCN-Wirkung erklären könnte.

Angriffspunkt des Veratridins und seiner Antagonisten

Nach den Überlegungen auf S. 20 erhöht Veratridin die Na-Permeabilität auf einen Wert, der weit über der Na-Permeabilität der ruhenden Faser liegt. Dies macht eine Beeinflussung des Na-Überträgersystems, das den raschen Na-Einstrom in der Anstiegsphase des AP verursacht, wahrscheinlich.

Weidmann (1955) hat an der Purkinje-Faser die Beeinflussung des Na-Überträgersystems durch Pharmaka eingehend studiert. Dieses System kann nach *Hodgkin* und *Huxley* (1952) drei verschiedene Zustandsstadien einnehmen, den Ruhezustand (P_{Na} klein, kann sich bei Depolarisation erhöhen), den aktiven (P_{Na} hoch) und den inaktiven Zustand (P_{Na} klein, kann sich bei Depolarisation nicht erhöhen). Nach *Weidmann* (1955) verschieben Ca-Ionen die Gleichgewichte zwischen diesen Stadien zu Gunsten des Ruhezustandes, Lokalanästhetika zu Gunsten des inaktiven Zustandes.

In diese Gleichgewichte könnte nun auch Veratridin eingreifen und eine Verschiebung zu Gunsten des aktiven Zustandes bewirken. Dafür spricht die Erhöhung der Na-Permeabilität der ruhenden Faser, wie sie in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen wird, und die Beobachtungen von *Sato* u. Mitarb. (1951), daß Veratrin die Akkomodation, die Rheobase und den minimalen Gradienten vermindert und veratrinisierte Nerven Tendenz zu repetitiver Aktivität aufweisen.

Nun läßt sich auch die antagonistische Wirkung von Ca-Ionen und Cocain gegenüber Veratridin verstehen. Bei Erhöhen des Ca-Gehaltes verschieben sich die Gleichgewichte wieder zu Gunsten des Ruhezustandes und damit wird die Veratridin-Depolarisation und die repetitive Aktivität veratrinisierter Nerven aufgehoben. Ca-freie Lösungen haben anderseits eine ähnliche Wirkung wie Veratridin, beide verursachen repetitive Aktivität und Depolarisation. In Ca-freien Lösungen kann allerdings auch noch spontane Aktivität auftreten, was für Veratridin nicht nachgewiesen wurde (*Shanes* 1951 a). Das dürfte damit zusammenhängen, daß spontane Aktivität nur unter enger umschriebenen Bedingungen auftreten kann und bei höheren Veratrin-Konzentrationen schon wegen der ausgeprägten Depolarisation nicht erfolgt.

Der antagonistische Effekt des Cocains gegenüber Veratridin ist, wie aus *Weidmanns* Hypothese zu erwarten, anderer Art als derjenige der Ca-Ionen. So wird die Veratridin-Depolarisation durch Cocain viel schneller gehemmt als durch Ca, und das Ruhepotential steigt über das Ausgangsniveau hinaus an (Abb. 4). Die Hemmung hält auch nach Weglassen des Cocains mehrere Minuten an, während die Ca-Hemmung sofort reversibel ist. – Die Beobachtung von *Fleckenstein* (1950 a, 1950 b, 1950 c), daß der Veratrinblock der Erregungsleitung durch Zugeben von an sich blockierenden Konzentrationen verschiedener Lokalanästhetica aufgehoben werden kann, zeigt,

daß der Antagonismus Veratrin/Lokalanästhetica nicht nur an der ruhenden Faser wirksam ist.

Die erhöhte K-Permeabilität läßt sich vorläufig weniger in ein Gesamtbild einordnen.

Zusammenfassung

1. Die vorliegende Arbeit soll den Angriffspunkt des Veratridins mit Hilfe von Ruhepotentialmessungen präzisieren und in Zusammenhang mit der Wirkung einiger Ionen bringen.

2. Die Ruhepotentialmessungen werden mit einer neuen Meß- und Registriermethode ausgeführt, die erlaubt, mit Außenelektroden annähernd die wahren Potentialänderungen an markhaltigen Nervenfaserbündeln zu messen.

3. Veratridin senkt das Ruhepotential, wobei die Depolarisation bei grösseren Veratridin-Konzentrationen zunimmt. Bei Rückkehr in Ringerlösung kehrt das Ruhepotential meistens auf den Ausgangswert zurück.

4. An Bündeln ist unter Veratridin-Wirkung das Ruhepotential stark von der Na-Außenkonzentration abhängig. Erhöhte Na-Außenkonzentration senkt das Ruhepotential, verminderte führt zu Ruhepotentialzunahme. Wird das Na der Ringerlösung durch Li ersetzt, so ist die entstehende Potentialerhöhung unter Veratridin-Wirkung viel größer.

5. Erhöhte K-Konzentration führt unter Veratridin-Wirkung zu einer größeren Depolarisation.

5. Der Einfluß einiger Anionen auf das Ruhepotential normaler Nervenfasern wird untersucht (s. Tab. 3). Veratridin hat keinen meßbaren Einfluß auf die Ruhepotentialänderungen, die durch Änderungen der Chloridkonzentration hervorgerufen werden.

7. Ca-arme und Ca-freie Lösungen vermindern das Ruhepotential, Ca-reichere Lösungen erhöhen es leicht. Erhöhte Ca-Konzentrationen können die Veratridin-Depolarisation verhindern.

8. Cocain-haltige Ringerlösung verändert das Ruhepotential kaum. An Fasern, die mit Veratridin depolarisiert wurden, führt Cocain zu einer Erhöhung der Ruhepotentiale über den Normalwert.

9. Dinitrophenol und KCN ändern das Ruhepotential kaum. Dinitrophenol hat keinen Einfluß auf die Veratridin-Wirkung, KCN führt nach vorausgegangener Veratridin-Wirkung zu einer Ruhepotentialsenkung.

10. Die Resultate werden auf Grund der «constant field theory» diskutiert. Die Veratridin-Wirkung läßt sich auf eine Erhöhung der Na- und K-Permeabilität zurückführen. Eine direkte Wirkung des Veratridins auf den Stoffwechsel scheint unwahrscheinlich.

11. Die Veratridin-Wirkung könnte auf einer Beeinflussung des Na-Überträgersystems beruhen.

Summary

1. This paper presents a further approach to the mechanism of action of veratridine by analyzing the veratridine effect on resting potential and on ion induced resting potential changes.

2. The resting potential of nerve fibres is measured by a new method, which, using external electrodes and a „sucrose gap", permits to record nearly the true value of the potential changes.

3. Veratridine produces a depolarization, which by its amplitude depends on veratridine concentration. – Washing with Ringer brings the potential generally back to the initial value.

4. The resting potential of veratrinized nerve fibres depends highly on external Na concentration. High Na concentrations lower, low Na concentrations increase the resting potential. – Solutions in which Na is replaced by an equivalent amount of Li cause a potential rise. Veratridine increases this Li effect.

5. The K depolarization is increased by veratridine.

6. The effect of some anions on resting potential of normal nerve fibres is described (see tab. 3). Veratridine has no influence on potential changes produced by different chloride concentrations.

7. Ca-free solutions decrease the resting potential, Ca-rich solutions produce a small hyperpolarization. Higher Ca concentrations prevent veratridine depolarization.

8. Cocaine-Ringer solution scarcely alters the resting potential. Cocaine hinders the veratridine action and brings the resting potential of veratridine-depolarized fibres rapidly to a higher value than normal.

9. Dinitrophenol and KCN have no important effect on resting potential. Dinitrophenol has no influence on veratridine action, KCN depolarizes fibres, if they had previously been in contact with veratridine.

10. Veratridine action seems mainly be due to an increase of Na and K permeability. There are no signs of a direct action on nerve metabolism.

11. The veratridine effect might be explained by an action on the „sodium carrying system".

Herrn Prof. *Stämpfli*, Homburg/Saar, möchte ich für seine stetige Hilfe bei den experimentellen Untersuchungen und beim Verfassen dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Boyle P. J. and *Conway E. J.:* Potassium accumulation in muscle and associated changes. J. Physiol. (Lond.) **100,** 1–63 (1941).

Dean R. B.: Theories of electrolyte equilibrium in muscle. Biol. Symp. **3,** 331 (1940); zit. nach *Hodgkin* (1951).

Fenn W. O., Cobb D. M., Hegnauer A. H. and *Marsh B. S.:* Electrolytes in nerve. Amer. J. Physiol. **110,** 74–96 (1934).

Fleckenstein A.: Kaliumsensibilisatoren. Verh. dtsch. pharmakol. Ges., 17. Tag., Bad Nauheim, April 1950; siehe Arch. exp. Path. Pharmak. **212,** 54–63 (1951 a).

Fleckenstein A.: Elektrophysiologische Studien zum Mechanismus des Nervenblocks durch Schmerzstoffe und Lokalanästhetica. Arch. exp. Path. Pharmak. **212,** 416 bis 432 (1951 b).

Fleckenstein A. und *Hardt A.:* Der Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetica und Antihistaminkörper – ein Permeabilitätsproblem. Klin. Wschr. **27,** 360–363 (1949).

Goldman D. E.: Potential, impedance and rectification in membranes. J. gen. Physiol. **27,** 37–60 (1944).

Gordon H. T. and *Welsh J. H.:* The rôle of ions in action surface reactions to toxic organic compounds. J. cell. comp. Physiol. **31,** 395–407 (1948).

Goffarth M. et *Bacq Z. M.:* Les Sensibilisateurs au Potassium. Ergebn. Physiol. **47,** 555–617 (1952).

de Gruyter E.: Neuer Vorverstärker für physiologische Zwecke. Helv. Physiol. Acta **12,** C 53–C 54 (1954).

Hodgkin A. L.: The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. Biol. Rev. **26,** 339–409 (1951).

Hodgkin A. L. and *Huxley A. F.:* A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol. (Lond.) **117,** 500–544 (1952).

Hodgkin A. L. and *Katz B.:* The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of squid. J. Physiol. (Lond.) **108,** 37–77 (1949).

Hodgkin A. L. and *Keynes R. D.:* The mobility of potassium in the axis cylinder of a giant axon. Abstr. XVIII int. physiol. Congr. 258–260 (1950).

Hodgkin A. L. and *Keynes R. D.:* Metabolic inhibitors and sodium movements in giant axons. J. Physiol. (Lond.) **120,** P 45–P 46 (1953).

Hodler J., Stämpfli R. und *Tasaki I.:* Die Wirkung von Veratrin auf die einzelne markhaltige Nervenfaser. Helv. Physiol. Acta **8,** C 62–C 63 (1950).

Huxley A. F. and *Stämpfli R.:* Direct determination of membrane resting potential and action potential in single myelinated nerve fibres. J. Physiol. (Lond.) **112,** 476–495 (1951 a).

Huxley A. F. and *Stämpfli R.:* Effect of potassium and sodium on resting and action potential of single myelinated nerve fibres. J. Physiol. (Lond.) **112,** 496–508 (1951 b).

Keynes R. D.: Ionic movements during nervous activity. J. Physiol. (Lond.) **114,** 119–150 (1951).

Keynes R. D.: The ionic fluxes in frog muscle. Proc. roy. Soc. B **142,** 359–382 (1954).

Krayer O. and *Acheson G. H.:* The pharmacology of the veratrum alkaloids. Physiol. Rev. **26,** 383–446 (1946).

Lorente de Nò R.: A study of Nerve Physiology. Studies from the Rockefeller Institute for Medical Research, Vols. **131** and **132,** New York 1947.

Sato M., Nadao M., Terauchi C., Yamanaka T. and *Matsumoto M.:* The accomodation curves of nerve and nerve fiber, with special reference to the ,,breakdown of accommodation'', and the effects of veratrine, guanidine and aconitine upon them. Nippon Seirigaku Zassi **1,** 225–263 (1951).

Schmitt F. O. and *Gasser H. S.:* The relation between the after-potential and oxydative processes in medullated nerve. Amer. J. Physiol. **104,** 320–330 (1933).

Shanes A. M.: Electrical phenomena in nerve. I. J. gen. Physiol. **33,** 57–73 (1949 a).

Shanes A. M.: Electrical phenomena in nerve. II. J. gen. Physiol. **33,** 75–102 (1949 b).

Shanes A. M.: Electrical phenomena in nerve. III. J. cell. comp. Physiol. **38,** 17–40 (1951 a).

Shanes A. M.: Potassium movement in relation to nerve activity. J. gen. Physiol. **34,** 795–807 (1951 b).

Shanes A. M.: Ionic transfer in nerve in relation to bio-electrical phenomena. New York Acad. Sci. **55,** 1–36 (1952 b).

Shanes A. M., Grundfest H. and *Freygang W.:* Low level impedance changes following the spike in the squid giant axon before and after treatment with „veratrine" alkaloids. J. gen. Physiol. **37,** 39–51 (1953).

Shanes A. M.: The ultraviolet spectra and neurphysiological effects of „veratrine" alkaloids. J. Pharmacol. **105,** 216–231 (1952 a).

Stämpfli R.: Demonstration der Messung des Membranpotentials einzelner markhaltiger Nervenfasern. Helv. Physiol. Acta **10,** C 41–C 42 (1952 a).

Stämpfli R.: Bau und Funktion isolierter markhaltiger Nervenfasern. Ergebn. Physiol. **47,** 70–165 (1952 b).

Stämpfli R.: A new method for measuring membrane potentials. Abstr. XIX int. physiol. Congr. 793–795 (1953).

Stämpfli R.: A new method for measuring membrane potentials with external electrodes. Experientia (Basel) **10,** 508–509 (1954).

Stämpfli R. und *Straub R.:* Demonstration der Membranpotentialmessung von markhaltigen Nervenfasern mit Hilfe von Außenelektroden. Helv. Physiol. Acta **12,** C 6–C 8 (1954).

Stämpfli R. and *Nishie K.:* Effects of calcium free solutions on membrane potential of myelinated nerve fibres of the brasilian frog Leptodactylus ocellatus. Helv. Physiol. Acta **14,** 93–104 (1956).

Stoll A. und *Seebeck E.:* Die Spaltprodukte von Cevadin und Veratridin bei alkalischer Hydrolyse. Helv. chim. Acta **35,** 1270–1280 (1952).

Straub R.: Einfluß des Veratridins auf das Membranpotential von markhaltigen Nervenfasern. Helv. Physiol. Acta **12,** C 89–C 92 (1954).

Weidmann S.: Effects of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibres. J. Physiol. (Lond.) **129,** 568–582 (1955).

Witt P. N.: Beeinflussung der Veratridinwirkung am Skelettmuskel des Frosches. Helv. Physiol. Acta **11,** C 77–C 78 (1953).